

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：11301

研究種目：学術変革領域研究(B)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H05164

研究課題名（和文）マルチセルラコンピューティングシステムの実細胞再構成

研究課題名（英文）In Vitro Reconstitution of Multicellular Computing Systems

研究代表者

山本 英明 (Yamamoto, Hideaki)

東北大学・電気通信研究所・准教授

研究者番号：10552036

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 24,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、「人工神経細胞回路」（接続様式が厳密に規定された培養神経回路）とその摂動解析系を開発し、実神経細胞が構成する多細胞ネットワークの大自由度システムとしての動的特性と自己組織性をボトムアップに解析することを目的とした。その結果、モジュール構造型人工神経細胞回路の摂動応答特性の計測とモデル化や、実細胞リザーバコンピューティングの概念実証などに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

神経科学の基礎研究・物理リザーバコンピューティング・創薬支援技術などの多くの分野で期待が高まっている培養神経回路を対象として、その構造・機能をマイクロ加工基板やマイクロ流体デバイスを用いて制御する技術を開発した。これにより、生体脳に近い神経細胞ネットワークを培養系で再構築することが可能になった。

研究成果の概要（英文）：We developed "artificial neuronal networks," i.e., cultured neuronal networks with well-defined connection patterns, and their perturbation analysis systems, and constructively analyzed the dynamical properties of multicellular networks composed of biological neurons. We succeeded in recording and modeling the perturbation responses of artificial neuronal networks with modular structure and in demonstrating the proof-of-concept of physical reservoir computing using biological neurons.

研究分野：神経工学

キーワード：多細胞バイオ計算 培養神経回路 リザーバコンピューティング マイクロ流体デバイス 多点電極アレイ 蛍光カルシウムイメージング 自発活動 オプトジェネティクス

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

半導体ナノテクノロジーはバイオサイエンスとの融合を通じて、生体分子や細胞などのミクロな階層における生命現象を高速・高感度に調べる技術を生みだし、生命科学に新たな知見を与えると共に、医療に革新をもたらした(Huh+, Science 2010 など)。次のチャレンジは、多細胞(マルチセルラ)ネットワークの階層における融合の実現であり、ここには、基礎科学や医療、さらにはエレクトロニクスや情報通信技術においても多彩なイノベーションの創発が期待される。

このような中で申請者は、基板表面に形成した生体分子マイクロパターンを用いて培養神経細胞を操作し、「人工神経細胞回路」を構築する一連の技術を確立した。これにより、あたかもウェーハ上に金属や半導体をパターンニングして集積回路を構成するかのごとく、生きた神経細胞を操作して、意図した構造を有する神経細胞回路を人工的に再構成することが可能になった。

2. 研究の目的

本研究では、学術変革領域研究(B)「脳神経マルチセルラバイオコンピューティング」のA01 情報数理班, A03 分子・細胞神経生物学班, A04 システム生物学班との連携を通して、「人工神経細胞回路」(※接続様式が厳密に規定された培養神経回路)とその摂動解析系を開発し、実神経細胞が構成する多細胞ネットワークの大自由度システムとしての動的特性と自己組織性をボトムアップに解析することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 人工神経細胞回路の構築と摂動解析

マイクロコンタクトプリンティング法を用いて生体分子をパターンニングした微細加工基板や、マイクロ流体デバイスを用いてラット大脳皮質神経細胞をパターンニングすることで、げっ歯類大脳皮質などにも見られるモジュール構造を有する人工神経細胞回路を作製する。無入力状態における自発活動と、光遺伝学的に入力した外部刺激に対する応答を、A03 松井や A04 正水が同じ蛍光カルシウムイメージングを用いて計測する。

(2) 実細胞リザバーコンピューティングの概念実証

ヒトの発話音声信号を周波数変換して作製した入力信号をパターン光に変換し、人工神経細胞回路に対して刺激入力として印加する。刺激に対する応答を線形分類器でデコーディングすることで、2クラス分類タスクにおける正答率や、人工神経細胞回路(培養神経回路)のリザバー計算特性を評価する。

(3) 高密度多点電極アレイを用いた人工神経細胞回路の活動計測

カルシウムイメージングや光遺伝学的刺激は脳神経生物学の汎用ツールとして、広く活用されている実験手法であるが、その時間分解能は数 10 ms 程度に限定される。神経細胞では数 ms の時間タイミングも情報表現やシナプス可塑性に影響するため、この時間分解能は実験上の大きなボトルネックであった。そこでこの問題を解決すべく、高密度多点電極アレイ(HD-MEA)を用いた電気的なバイオフィンターフェースの構築を進める。

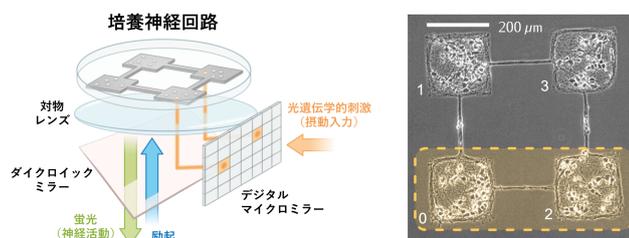


図1. 構築した実験系の模式図(左)とモジュール構造型培養神経回路の顕微鏡写真(右)。黄色で囲った領域に含まれる神経細胞に刺激を印加した。

4. 研究成果

(1) 人工神経細胞回路の構築と摂動解析

カルシウムイメージング法と光遺伝学技術を用いて、人工神経細胞回路の摂動応答をリアルタイムで計測する実験系を構築した(図1)。そして、哺乳類の大脳皮質で見られる「モジュール性」という特徴を強く持った培養神経回路ほど外部入力に対する感受性が強くなり、培養神経回路特有の過剰な同期が崩されやすくなることが分かった(図2)。細胞外のカリウム濃度を上昇させることで神経回路全体の興奮性を一斉に上昇させた場合には

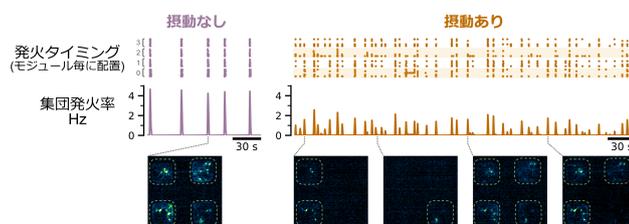


図2. モジュール構造を有する培養神経回路に非同期的な信号を印加すると、神経細胞間の同期性が低下し、ネットワークの活動が脱同期する。上段: 神経細胞の発火のタイミングを示すラスタプロット。4つのモジュール(0番~3番)毎に配列して表示している。入力は0番と2番のモジュールに印加した。中段: 培養神経回路全体の集団発火率。下段: 代表的な時刻における蛍光カルシウムイメージングの様子。

このような変化が起きなかったことから、ここで観察された脱同期には入力信号が非同期的である必要があることを明らかにした。さらに一連の実験結果を説明する2つのシミュレーションモデルを構築し、特にスパイクングニューラルネットワークと呼ばれる生物学的妥当性の高いモデルでの解析では、外部から入力を常時受けることによってシナプス伝達で放出される神経伝達物質が減少することが鍵になっていることを示した。またモジュールの機能を抽象化したメゾスコピックな神経回路モデルでは、モジュール間の信号伝達に確率的にゲーティングされることが実験結果の記述に本質的に重要であることを明らかにした(Yamamoto et al., Sci. Adv. 2023).

(2) 実細胞リザーバーコンピューティングの概念実証

A01 香取が理論的研究を進めてきたリザーバーコンピューティング(※大自由度力学系の過渡応答を情報処理に結びつける機械学習の枠組み)を用いて人工神経細胞回路の刺激応答パターンをデコードすることで、培養細胞系の信号変換特性やそこに実装可能な情報処理を調べた。具体的には、まず、人工神経細胞回路は異なる箇所に入力されたパルス入力を分類することが可能であり、ネットワークのモジュール性が分類精度と正の相関を示すことを明らかにした。続いて、人工神経細胞回路が数百ミリ秒程度の短期記憶を持ち、これを利用して人間の発話音声のような時系列データの分類が可能であることを実証した(図3)。さらに興味深いことに、人工神経細胞回路に基づくリザーバー計算機はカテゴリー学習が可能であり、1つのデータセットで訓練されたネットワークを使って、同じカテゴリーの別のデータセットを分類することができた。線形分類器で入力信号を直接解読すると、このような分類は不可能であったことから、人工神経細胞回路はリザーバーコンピューティングの性能を向上させるための汎化フィルターとして機能することが示唆された(図4)(Sumi et al., PNAS 2023).

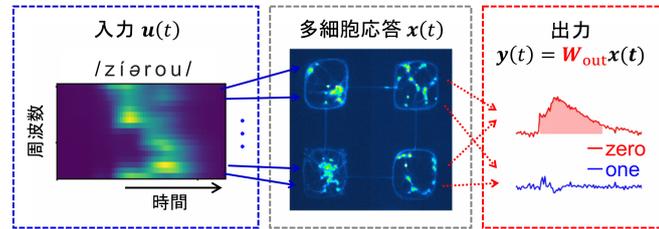


図3. 人工神経細胞回路を使用したリザーバーコンピューティング. 人間の発話音声(数字の0を英語で発音した“zero”)が入力されると、人工神経細胞回路は入力を多細胞応答に変換する. その信号を線形分類器で読み出すことで、時系列信号の分類が達成される。

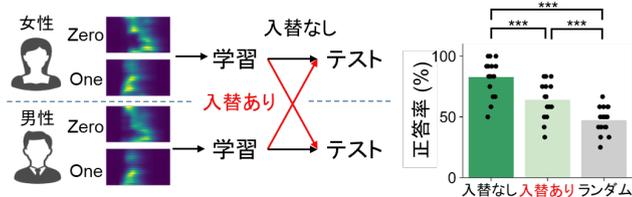


図4. 人工神経細胞回路が汎化フィルターとして機能することの実証. 学習時とテスト時に話者を入れ替えても、人工神経細胞回路に基づくリザーバー計算機は、話された数字の分類に成功した. 話者入れ替え時の分類精度は入れ替えがないときよりは低下するが、分類がランダムより高いレベルで達成された。

(3) 高密度多点電極アレイを用いた人工神経細胞回路の活動計測

シリコン樹脂性のマイクロ流体デバイスを用いてラット大脳皮質神経細胞を高密度多点電極アレイ上にパターンニングして人工神経細胞回路の形成する技術を開発した。具体的には、Maxwell Biosystems 社 Max One HD-MEA チップに対して薄膜型マイクロ流体デバイスを用いて神経細胞をパターンニングする手法を開発した。実現の障壁となったのは、HD-MEA 表面の凹凸がマイクロ流体デバイスとチップの間に μm オーダーの間隙を形成してしまうことであったが、細胞親和性のあるハイドロゲルを用いて両者を密着させる表面改質法を開発した。これにより、人工神経細胞回路の自発活動を $50 \mu\text{s}$ の時間分解能で最大1,024チャンネル同時に計測することが可能になった(図5)。さらに A01 香取班分担者の加藤と共同で神経データを解析し、モジュール構造に神経細胞をパターンニングすることにより過剰な同期が抑制され、自発活動が臨界状態に近づくことを示した(Sato et al., Front. Neurosci. 2023).

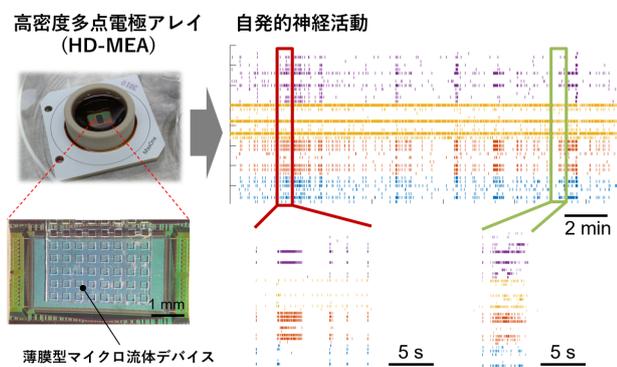


図5. HD-MEA 上への神経細胞パターンニング(左)と自発活動計測(右). 各電極で活動電位が検出されたタイミングを点で示している. 計測電極が属するモジュールごとに色分けしている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 T. Sumi, H. Yamamoto, Y. Katori, K. Ito, S. Moriya, T. Konno, S. Sato, A. Hirano-Iwata	4. 巻 120
2. 論文標題 Biological neurons act as generalization filters in reservoir computing	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.	6. 最初と最後の頁 e2217008120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2217008120	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 山本英明, 平野愛弓, 佐藤茂雄	4. 巻 92
2. 論文標題 マイクロ流体デバイスを用いた神経回路機能の実細胞再構成	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 応用物理	6. 最初と最後の頁 278-282
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11470/oubutsu.92.5_278	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 H. Yamamoto, A. Hirano-Iwata, S. Sato	4. 巻 2023
2. 論文標題 Microfluidic technologies for reconstituting neuronal network functions in vitro	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 JSAP Review	6. 最初と最後の頁 230420
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11470/jsaprev.230420	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 H. Yamamoto, F.P. Spitzner, T. Takemuro, V. Buend_a, H. Murota, C. Morante, T. Konno, S. Sato, A. Hirano-Iwata, A. Levina, V. Priesemann, M.A. Mu_oz, J. Zierenberg, J. Soriano	4. 巻 9
2. 論文標題 Modular architecture facilitates noise-driven control of synchrony in neuronal networks	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eade1755
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.ade1755	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 M. Sato, M. Hariyama, M. Komiya, K. Suzuki, Y. Tozawa, H. Yamamoto, A. Hirano-Iwata	4. 巻 122
2. 論文標題 Model-free idealization: Adaptive integrated approach for idealization of ion-channel currents	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biophysical Journal	6. 最初と最後の頁 3959-3975
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bpj.2023.08.019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 M. Sakaibara, H. Yamamoto, H. Murota, N. Monma, S. Sato, A. Hirano-Iwata	4. 巻 695
2. 論文標題 Enhanced responses to inflammatory cytokine interleukin-6 in micropatterned networks of cultured cortical neurons	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 149379
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2023.149379	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 K. Watanabe, Y. Mizugaki, S. Moriya, H. Yamamoto, T. Yamashita, S. Sato	4. 巻 1700204
2. 論文標題 Numerical Study on Physical Reservoir Computing With Josephson Junctions	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 IEEE Transactions on Applied Superconductivity	6. 最初と最後の頁 1700294
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1109/TASC.2024.3350576	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Oguchi Daisuke, Moriya Satoshi, Yamamoto Hideaki, Sato Shigeo	4. 巻 13
2. 論文標題 An investigation of the relationship between numerical precision and performance of Q-learning for hardware implementation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nonlinear Theory and Its Applications, IEICE	6. 最初と最後の頁 427 ~ 433
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1587/nolta.13.427	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Moriya Satoshi, Yamamoto Hideaki, Sato Shigeo, Yuminaka Yasushi, Horio Yoshihiko, Madrenas Jordi	4. 巻 -
2. 論文標題 A Fully Analog CMOS Implementation of a Two-variable Spiking Neuron in the Subthreshold Region and its Network Operation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 2022 International Joint Conference on Neural Networks (IJCNN)	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1109/IJCNN55064.2022.9891920	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sato Yuya, Yamamoto Hideaki, Kato Hideyuki, Tanii Takashi, Sato Shigeo, Hirano-Iwata Ayumi	4. 巻 16
2. 論文標題 Microfluidic cell engineering on high-density microelectrode arrays for assessing structure-function relationships in living neuronal networks	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroscience	6. 最初と最後の頁 943310
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnins.2022.943310	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sato Shigeo, Moriya Satoshi, Kanke Yuka, Yamamoto Hideaki, Horio Yoshihiko, Yuminaka Yasushi, Madrenas Jordi	4. 巻 12895
2. 論文標題 A Subthreshold Spiking Neuron Circuit Based on the Izhikevich Model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Artificial Neural Networks and Machine Learning ICANN 2021. Lecture Notes in Computer Science	6. 最初と最後の頁 177 ~ 181
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-3-030-86383-8_14	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計77件 (うち招待講演 11件 / うち国際学会 31件)

1. 発表者名 H. Yamamoto, A. Hirano-Iwata, S. Sato
2. 発表標題 In vitro neuroengineering technologies for reconstituting and decoding neuronal network dynamics
3. 学会等名 Tohoku NeuroTech Symposium (TNS) 2023 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山本英明, 住 拓磨, 平野愛弓, 佐藤茂雄
2. 発表標題 人工神経細胞回路を用いた物理リザーブコンピューティング
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第48回研究会 (CHEMINAS48) (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山本英明
2. 発表標題 生体工学と機械学習による神経回路機能の探求
3. 学会等名 計測自動制御学会 システム・情報部門 学術講演会 2023 (SSI2023) (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 H. Yamamoto, S. Sato, A. Hirano-Iwata
2. 発表標題 Optogenetic perturbation of engineered neuronal networks grown in vitro
3. 学会等名 16th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2023) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山本英明
2. 発表標題 神経細胞ネットワークの機能を理解し応用するための神経工学技術
3. 学会等名 Beyond AIワークショップ「培養ニューロンの機能と未来」(招待講演)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 山本英明
2. 発表標題 ボトムアップアプローチによる神経回路機能の探求と応用
3. 学会等名 第21回 ExCELLSセミナー (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山本英明
2. 発表標題 マイクロパターン基板を用いた神経回路機能の実細胞再構成
3. 学会等名 第83回秋季応用物理学会学術講演会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山本英明, 平野愛弓, 佐藤茂雄
2. 発表標題 バイオ界面制御による神経回路機能の人工再構成
3. 学会等名 薄膜材料デバイス研究会第18回研究集会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 H. Yamamoto, T. Takemuro, N. Monma, S. Sato, A. Hirano-Iwata
2. 発表標題 Polydimethylsiloxane microfluidic films for in vitro engineering of mesoscale neuronal networks
3. 学会等名 14th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2021) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山本英明, 平野愛弓, 佐藤茂雄
2. 発表標題 Dynamical richness defined by modular organization in engineered neuronal networks
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 H. Yamamoto, T. Sumi, T. Takemuro, S. Moriya, S. Sato, A. Hirano-Iwata
2. 発表標題 Artificial reconstitution of neuronal network functions with living cells
3. 学会等名 The 3rd International Symposium on Neuromorphic AI Hardware (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>学術変革領域研究(B)・領域ホームページ https://www.mnbc.riec.tohoku.ac.jp/index.html</p> <p>プレスリリース 「人工培養脳」が時系列データの処理を改善 ~物理リザーバーとして新たな可能性を拓く~ (2023年6月29日) https://www.tohoku.ac.jp/japanese/2023/06/press20230629-03-eservoir.html</p> <p>プレスリリース 生物の脳神経回路の構造を模した培養系モデルを開発 モジュール構造の機能的意義に関する新視点を提供 (2023年8月28日) https://www.tohoku.ac.jp/japanese/2023/08/press20230828-01-modular.html</p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	谷井 孝至 (Tanii Takashi) (20339708)	早稲田大学・理工学術院・教授 (32689)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	平野 愛弓 (Hirano-Iwata Ayumi) (80339241)	東北大学・電気通信研究所・教授 (11301)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	佐藤 茂雄 (Sato Shigeo) (10282013)	東北大学・電気通信研究所・教授 (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
	スペイン	バルセロナ大学	グラナダ大学	カタルーニャ工科大学
ドイツ	マックスプランク研究所			